



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**  
Universidad del Perú. Decana de América  
Facultad de Ciencias Biológicas  
Escuela Académico Profesional de Genética y Biotecnología

**Caracterización bioquímica y biológica de una  
hialuronato glicanohidrolasa del veneno de la serpiente  
peruana *Bothrops brazili* “Jergón shushupe”**

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Biólogo Genetista  
Biotecnólogo

**AUTOR**

Julio César DELGADILLO ARONE

**ASESOR**

Armando YARLEQUÉ CHOCAS

Lima, Perú

2012

## RESUMEN

*Bothrops brazili* conocida como “jergón shushupe” es una serpiente que habita en la selva amazónica del Perú y países vecinos. En el veneno de esta serpiente se ha encontrado una proteína con actividad hialuronato glicanohidrolasa o hialuronidasa. La purificación se realizó en dos pasos cromatográficos utilizando columnas de Sephadex G-75 y DEAE Sephadex A-50. Se obtuvo una purificación de 33 veces con un rendimiento de 54,5 % y una recuperación de proteína activa equivalente a 1,66 %. Esta enzima es una proteína básica monocatenaria con un peso molecular de 110 kDa y pH óptimo fue de 5,5. La actividad enzimática a temperatura ambiente, después de 72 horas, se mantuvo en 50 % y fue completamente inactivada a las 192 horas. La actividad de la hialuronidasa se incrementó un 38,9 % por la adición de iones magnesio (150 mM), en tanto que el EDTA, el iodoacetato y el aminoácido glicina produjeron fuertes inhibiciones. La hialuronidasa de *B.brazili* (HBra) es muy antigénica formando una sola línea de precipitación frente al antiveneno polivalente (INS-Perú). Se concluye que esta enzima es un factor difusor del veneno por su acción en los procesos hemolíticos y hemorrágicos ensayados *in vitro* e *in vivo*. La proteína carece de toxicidad y fue neutralizada tanto por el antiveneno botrópico polivalente como el lachésico monovalente.

**Palabras claves:** *Bothrops brazili*, hialuronidasa, veneno, antiveneno

## ABSTRACT

*Bothrops brazili* known as “jergon shushupe” is a snake that inhabits the Amazon jungle of Peru and neighboring countries. The venom of this snake found a protein with hyaluronate glycanohydrolase or hyaluronidase activity. The purification was performed by two chromatographic steps using Sephadex G-75 and DEAE Sephadex A-50 columns. The purification obtained was 33 folds with 54,5 % of yield and the recovery of active protein was equivalent to 1,66 %. This enzyme was a monocatenary basic protein with a molecular weight of 110 kDa and the optimum pH was 5,5. The enzymatic activity at room temperature after 72 hours was maintained at 50 % and was completely inactivated at 192 hours. The hyaluronidase activity was increased at 38,9% by the addition of magnesium ions (150mM), strong inhibitions were produced for EDTA, iodoacetate and the amino acid such as glycine. The *B.brazili* hyaluronidase (HBra) was strongly antigenic forming a single precipitation line against polyvalent botropic antivenom (INS-Peru), it is concluded that this enzyme was a diffuser venom factor by their action in hemolytic and hemorrhagic processes assayed in vitro and in vivo. The protein was not toxic and neutralized by both polyvalent botropic as monovalent lachesic antivenoms.

**Keywords:** *Bothrops brazili*, hyaluronidase, venom, antivenom